R. ISTITUTO SUPERIORE AGRARIO DI PISA
LABORATORI DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI BATTERIOLOGIA AGRARIA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

41.

O. VERONA

Sulla solubilizzazione microrganica del carbonato di ferro

PISA
TIPOGRAFIA EDITRICE PACINI MARIOTTI
—
1930 - VIII

Estratto dal *Bollettino del R. Istituto Superiore Agrario di Pisa,*

Vol. VI - Anno 1930.

O. VERONA

Sulla solubilizzazione microrganica del carbonato di ferro

Le nostre conoscenze relative ai processi di solubilizzazione degli elementi minerali del suolo, se sono abbastanza chiarite per alcuni — specialmente per quelli che occupano un posto di prevalenza nella nutrizione vegetale (1) — non lo sono, o lo sono poco, per gli altri.

Ancora non completamente studiato, da questo punto di vista, ci risulta così il circolo degli elementi alcalini od alcalino-terrosi — potassio, magnesio, calcio — dello zolfo e, infine, del ferro.

Pe cui, nonostante che i fenomeni sieno, si presume, di natura comparabile — imperniandosi in un giuoco di azioni acidificanti o alcalinizzanti — e, per conseguenza, paragonabili ne sieno gli effetti, non fu ritenuto inutile indagare se e come avvenga in natura la solubilizzazione biochimica dei sali insolubili di ferro.(2)

Questo elemento, così diffuso in tutti i terreni agrari

---

(1) R. Perotti. — *Sul ciclo biochimico dell'anidride fosforica nel terreno agrario.* Roma, 1909.

(2) O. Verona. — *À propos de la solubilisation bactérienne du carbonate de fer.* Boll. Soc. Int. Microb. V. II, fasc. VI, 1930.

Id. — *Nouvelles recherches sur la solubilisation bactérienne du carbonate de fer.* Id. Vol. II, fasc. X, 1930.

di cui molti ne sono ricchissimi, soggiace ad un complesso di azioni microrganiche riferibili fondalmentalmente a due tipi diversi: in parte riduttivi ed ossidativi, mercè l'intervento di forme anaerobie e aerobie; in parte solutivi intermediari per questi ultimi i numerosi microrganismi produttori di acidi.

Intorno ai processi riduttivi e ossidativi, nei riguardi sia delle forme agenti, che del meccanismo delle loro azioni, molto è stato indagato(1); mentre non così ci risulta per l'altro gruppo di fenomeni di cui non si ricordano che i lavori di Söhngen(2) e di Brown e Corson,(3) citati anche da De' Rossi,(4) i quali ultimi AA. accertarono la solubilizzazione del carbonato ferroso in colture pure di vari schizomiceti (*Bac. coli, Bac. subtilis, Bac. vulgaris, Bact. pyocyaneum, Bact. cloacale, Cladothrix dichotoma*) e di Eumiceti; oltre a stabilire reciproci rapporti di solubilizzazione e insolubilizzazione dello stesso carbonato di ferro in colture contenenti sospensioni acquose di varie terre.

In questo studio fu operato quasi sempre con colture brute ma non fu trascurato di cimentare anche, sul carbonato ferroso, colture pure di schizomiceti e di funghi.

Il piano delle presenti ricerche risultò fissato, cioè, nel modo che segue:

1.° Influenza della sterilizzazione sulla solubilizzazione del carbonato.

---

(1) Per la bibliografia relativa vedere l'interessante monografia di N. Cholodny. *Die Eisenbakterien*. Jena, 1925.

(2) C. B. 1914, v. XL.

(3) In Soil Science 1916, v, II.

(4) In *Microbiologia Agraria e Tecnica*. Torino, 1927.

2° La solubilizzazione batterica del carbonato ferroso nelle colture brute.

3.° L'influenza, in essa, degli idrati di carbonio.

4.° L'influenza della sorgente di azoto.

5.° L'influenza delle basi.

6.° L'influenza degli elementi oligodinamici.

7.° I reperti nelle colture pure.

I.

Influenza della sterilizzazione sulla solubilizzazione del carbonato ferroso.

Nell'iniziare le presenti ricerche era naturale che il primo intendimento fosse quello di stabilire quale influenza venisse esercitata sul carbonato ferroso dai diversi processi di sterilizzazione, al meno da quelli di uso più comune e ai quali sarebbe stato necessario far ricorso nel prosieguo delle ricerche stesse.

Fu ricercata in particolare l'azione della temperatura nel vapor d'acqua sovrariscaldato a 120° C, e nel vapor d'acqua fluente traendo le conclusioni dai dati analitici ottenuti dalle determinazioni del ferro eventualmente solubilizzantesi (1)

Nel vapor d'acqua a 120° C. in autoclave.

Gr. 0,5 di carbonato di ferro venne aggiunto in una Erlenmeyer a cc. 500 di acqua distillata e lasciato per 24 ore in

(1) Debbo far notare che la determinazione del ferro solubilizzantesi non fu eseguita ponderalmente trattandosi sempre di quantità assai piccole. Fu fatto uso perciò del metodo colorimetrico basato sulla colorazione rossa che si ottiene trattando i sali ferrici con solfocianato ammonico. (v. C. Ravenna, *Manuale di analisi agraria e bromatologica*. Bologna, 1921, p. 151.

riposo a temperatura ordinaria. La determinazione dell'Fe_2O_3 avvenne prima e dopo la sterilizzazione che fu eseguita mantenendo il vapor d'acqua a 120° C. per 15 minuti: in alcun caso, sia prima che dopo la sterilizzazione, fu trovato ferro in soluzione.

Nel vapor d'acqua fluente.

La precedente ricerca ci dispensava da ulteriore indagine, poichè potevamo valerci dell'autoclave come mezzo di sterilizzazione. Comunque, al fine di vedere se l'azione del calore prolungata per più giorni avesse una qualche diversa influenza, furono come sopra cimentati gr. 0,5 di carbonato in 500 cc. di acqua, previo riposo di 24 ore a temperatura ordinaria, tenendoli per il tempo di un'ora e per tre giorni consecutivi in corrente di vapor d'acqua fluente (pentola di Koch).

Risultò, sia nella prova iniziale che nelle tre altre successive, assenza di ferro in soluzione. Per cui può dedursi che, anche l'azione prolungata del calore, non ha alcuna influenza nei fenomeni solutivi del carbonato ferroso.

II.

La solubilizzazione batterica del carbonato ferroso nelle colture brute

La curva di solubilizzazione.

Furono allestite all'uopo due Erlenmeyer contenenti ciascuna cc. 500 del seguente liquido colturale:

acqua distillata	1000
tartrato ammonico	2
glucosio	5
fosfato bipotassico	2
cloruro sodico solfato potassico	tracce

fu quindi aggiunto ad ognuna gr. 0,5 di carbonato di ferro; lasciato in riposo per 24 ore; sterilizzato a 120° C. Una fu mantenuta sterile, l'altra fu inoculata con cc. 1 dello stemperamento, a parti uguali, di terra in acqua: fu coltivato a 28° C. e determinato il ferro, su aliquote del liquido, filtrato su carta e soddisfacentemente limpido, ogni cinque giorni per la durata di un mese.(1)

Risultò:

Determinazione:	Volume del liquido sottoposto ad analisi * cc.	Quantità di $Fe_2 0_3$ in soluzione: mmg.	
		liquido sterile	coltura attiva
Iniziale	100	tracce	tracce
Dopo 5 giorni di colt.	»	»	16,980
» 15 » »	»	»	8,490
» 10 » »	»	»	7,150
» 20 » »	»	»	7,150
» 25 » «	»	»	4,290
» 30 » »	»	»	2,145

Da cui il diagramma (Fig. 1):

(1) Dato il sistema di filtrazione viene considerato come $Fe_2 0_3$ disciolto anche il ferro contenuto nel corpo dei microrganismi che hanno attraversato il filtro.

(*) L'indicazione fornita in questa colonna — sia della presente tabella come delle successive — non sempre corrisponde al'a quantità di liquido effettivamente sottoposto ad analisi poichè, anche quando la limitatezza dei liquidi colturali lo richiedeva, l'analisi si eseguiva su di una minore aliquota calcolandosi poi i risultati per cmc. 100.

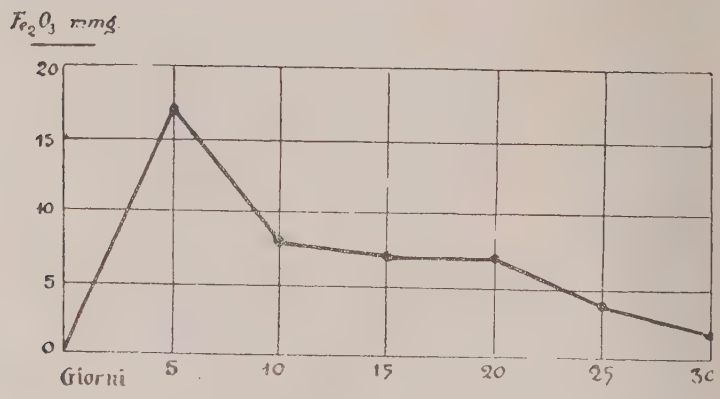

Fig. 1. — *Curva della soluzione del* Fe_2O_3 *nelle colture brute.*

Circa i reperti colturali è a dirsi che, nel matraccio mantenuto sterile non si ebbe mai solubilizzazione di ferro; nella coltura attiva lo sviluppo microbico si palesò con evidente intorbidamento del liquido, sviluppo di gas e leggera coperta in superficie, al 5° giorno; al 10° il progresso della coltura fu più manifesto; al 15° incominciarono ad apparire al fondo depositi grumosi; oltre il 20° lo sviluppo regredì con conseguente chiarificazione del liquido.

I fenomeni solutivi furono più intensi verso il 5° giorno; di poi andarono decrescendo tanto che al 30° giorno la quantità di ferro in soluzione nel liquido di coltura risultò di scarso valore.

La fissazione del ferro disciolto.

Una volta disciolto, il ferro doveva quindi tornare ad insolubilizzarsi, presumibilmente sotto forma organica o colloidale, nel corpo dei microrganismi stessi determinanti la solubilizzazione od anche per il fatto di fenomeni di adsorbimento e in dipendenza delle grandezze micellari. Ciò si

è procurato di mettere in evidenza, ricercando il ferro nei liquidi contenenti, o non, sostanza organizzata.

Allestito cioè un recipiente di coltura con la stessa soluzione nutritiva usata in precedenza e seminato con la medesima quantità di stemperamento acquoso di terra, ogni dieci giorni, per tre volte, ne veniva prelevata un'aliquota; il ferro veniva determinato in una metà, contenente la sostanza organizzata, e in un'altra metà, in cui la sostanza organizzata veniva liberata meccanicamente a mezzo di filtrazione al Chamberland. I valori ottenuti avrebbero rappresentato: l'uno, il ferro totale presente nei liquidi colturali da ritenersi solubilizzato o assorbito nel corpo batterico, l'altro il ferro ancora libero in soluzione nei liquidi medesimi.

I risultati di queste prove furono:

Determinazione:	Volume del liquido sottoposto ad analisi cc.	$Fe_2 O_3$: mmg.	
		nei liquidi contenenti sostanze organizzate	nei liquidi filtrati al Chamberland
Iniziale	100	tracce	tracce
Dopo 10 giorni	»	22,640	3,575
» 20 »	»	6,435	1,430
» 30 »	»	3,575	1,430

Da cui le curve (Fig. 2):

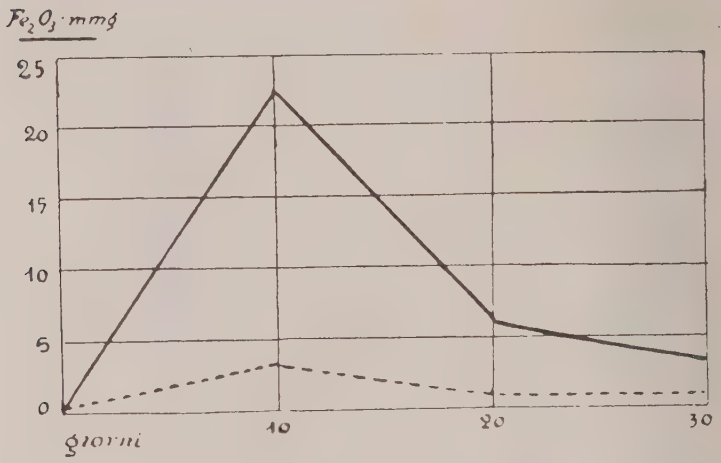

Fig. 2; *Curva dell'* Fe_2O_3 *presente nella sostanza organizzata e nel liquido di coltura.*

Ai fatti solutivi si correlazionano quindi quelli di insolubilizzazione e, forse, più dei primi importanti per trattenere nel terreno agrario, sotto forma biologicamente di maggior valore, un elemento della nutrizione vegetale.

III.

Influenza degli idrati di carbonio.

Nessun sperimentatore, prima che Perotti studiasse la solubilizzazione del fosfato tricalcico nel terreno agrario, prese a considerare in consimili ricerche la diversa influenza esercitata dai principali alimenti energetici; sì che i risultati che ne conseguivano non permettevano di determinare la portata dell'azione di detti composti, nè il differente valore che risultasse dalla loro diversa costituzione.

Per questo fu ritenuto opportuno di estendere la nostra indagine alla determinazione diretta dell'influenza degli idrati di carbonio: e ciò, prima di qualsiasi altra ricerca, data l'importanza che essi assumono nel metabolismo microrganico

Le presenti ricerche furono condotte:

a) in rapporto alla diversa specie dell'idrato di carbonio,

b) in rapporto alla differente concentrazione.

In rapporto alla diversa specie di idrato di carbonio.

In otto Erlenneyer da 1000 cc. furono versati cc. 500 del seguente liquido colturale:

acqua distillata	1000
tartrato ammonico	2
fosfato bipotassico	2
cloruro sodico solfato potassico	tracce
carbonato di ferro	1

Ripartite in due serie di quattro ciascuna furono aggiunti rispettivamente gr. 5 $^{0}/_{00}$ dei carboidrati seguenti: saccarosio, lattosio, glucosio, galattosio.

Fu mantenuto per 24' ore a temperatura ordinaria indi, sterilizzato, lasciando di poi una serie di recipienti sterile, l'altra inoculandola con stemperamento acquoso di terra. Coltivato a 28°C. e determinato il ferro ogni 5 giorni, risultò:

Determinazione	Volume del liquido sottoposto ad analisi	Fe_2O_3 solubilizzato con le sorgenti di carbonio			
		saccarosio mmg.	glucosio mmg.	lattosio mmg.	galattosio mmg.
Iniziale	100	tr.	tr.	tr.	tr.
Dopo 5 giorni di coltura	»	6.435	22.640	6.435	11.320
» 10 » »	»	6.435	20.410	6.435	8.490
» 15 » »	»	3.575	10.400	6.435	6.435
» 20 » »	»	8.490	11.320	7.150	7.150
» 25 » »	»	16.980	5.200	6,435	5.200
» 30 » »	»	9.710	5.200	6.435	5.200

Da cui i diagrammi (Fig. 3):

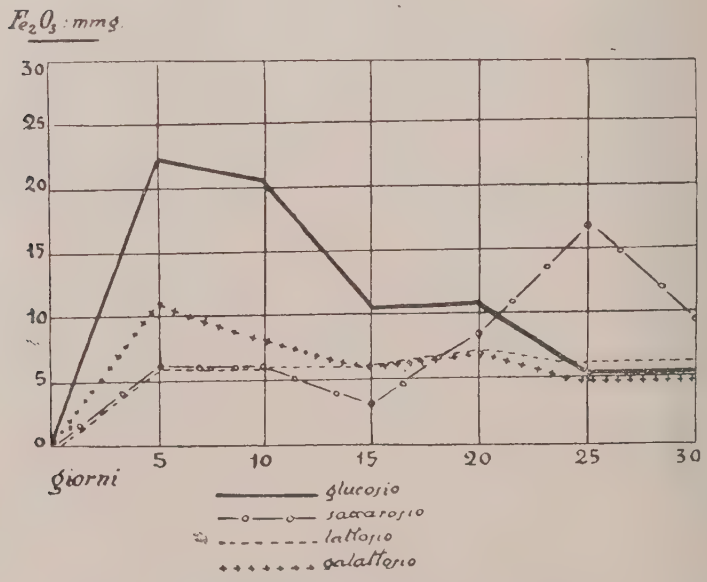

Fig. 3. — *Solubilizzazione batterica dell'* Fe_2O_3 *in presenza di diversi carboidrati.*

Nei riguardi della solubilizzazione del carbonato di ferro era da attendersi che i disaccaridi esplicassero un'azione marcatamente superiore a quella dei monosaccaridi. Il glucosio, invece, provocò fino al ventesimo giorno una solubilizzazione maggiore; solubilizzazione che andò poi rapidamente decrescendo mentre questo non si verificò per il saccarosio che subì una più lenta combustione respiratoria da parte dei microrganismi.

L'azione del saccarosio fu più persistente: pur tuttavia, nelle nostre condizioni d'esperienza, il glucosio risultò la sorgente di carbonio più opportuna.

In rapporto alla differente concentrazione del carboidrato.

Poichè le precedenti ricerche avevano permesso di stabilire che, almeno come intensità, il glucosio era la sorgente più acconcia di carboidrato, lo studio sulle diverse concentrazioni fu limitato al solo glucosio. Cosí che, allestite quattro Erlenmeyer con la soluzione, come sopra, fu aggiunto in ciascuna il glucosio nelle proporzioni rispettivamente del 0.5-1-2-5 %. Coltivato a 28°C. dopo avere inoculato con stemperamento acquoso di terra fu, come al solito, determinato il ferro ogni cinque giorni di coltura.

I risultati avuti furono i seguenti:

Determinazione:	Volume del liquidosottoposto ad analisi cc.	Fe_2O_3 presente nei liquidi di coltura contenenti glucosio alle concentrazioni dello			
		0.5 % mmg.	1 % mmg.	2 % mmg.	5 % mmg.
Iniziale	100	tr.	tr.	tr.	tr.
Dopo 5 giorni di coltura	»	8.45	16.98	22.64	28.30
» 10 » »	»	22.64	35.75	50.05	37.56
» 15 » »	»	28.30	50.05	85.80	42.90
» 20 » »	»	22.64	42.90	50.05	42.90
» 25 » »	»	16.98	37.56	42.90	28.30
» 30 » »	»	7.15	8.49	21.84	16.98

Da cui i diagrammi (Fig. 4):

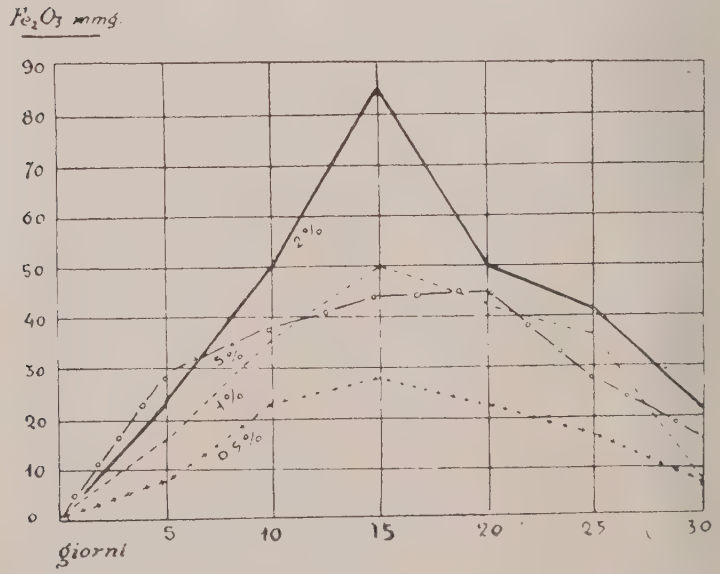

Fig. 4. — *Solubilizzazione batterica dell'* Fe_2O_3 *in presenza di diverse concentrazioni di glucosio.*

Le curve disegnate indicano anzitutto una certa uniformità di azione, sia in durata che in intensità, del carboidrato in esame. E la sua medesima azione è sensibile alle differenti concentrazioni essendo risultata minima, la curva di solubilizzazione, nelle concentrazioni corrispondenti allo 0.5 %; via via, poi, crescente fino a raggiungere il massimo della concentrazione del 2 %; inferiore, per quella del 5 %, in cui lo sviluppo microbico si mostrò ostacolato dall' elevato tenore osmotico del liquido di coltura.

IV.

Influenza della sorgente di azoto.

Al pari della sorgente carboidrata, la sorgente di azoto avrebbe dovuto avere notevole influenza sulla solubilizzazione del carbonato ferroso; come e più della prima, forse, per la natura della reazione fisiologica dei suoi sali.

Fu perciò provata:

a) l' azione delle varie sorgenti di azoto,

b) l' azione dei diversi sali ammoniacali,

c) l' azione delle diverse concentrazioni.

L' azione delle varie sorgenti di azoto.

Al seguente liquido colturale, costituito da:

acqua distillata	1000
glucosio	2
fosfato bipotassico	2
cloruro sodico solfato potassico	tracce
carbonato di ferro	1

e distribuito in grandi Erlenmeyer, furono aggiunte, per ogni recipiente, le seguenti sorgenti di azoto nelle proporzioni pari a gr. 0,3252 $^0/_{00}$ di N: tartrato ammonico, nitrato potassico, solfato ammonico, urea, asparagina:

Inoculato il terreno, furono mantenute a 28°C, determinandosi, come al solito, il ferro solubilizzantesi ogni cinque giorni di coltura. Parallelamente ciò venne eseguito in altre Erlenmeyer contenenti liquidi della medesima composizione ma mantenuti sterili.

In questi ultimi non si ebbero che tracce di ferro disciolto. Negli altri risultò:

Determinazione:	Volume del liquido sottoposto ad analisi cc.	Fe_2O_3 presente nei liquidi di coltura contenenti le seguenti sorgenti di azoto:				
		asparagina mmg.	urea mmg.	tartrato ammonico mmg.	nitrato potassico mmg.	solfato ammonico mmg.
Iniziale	100	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
Dopo 5 giorni	»	21.84	16.98	7.57	3.575	16.98
» 10 »	»	16.98	6.435	11.32	6.435	16.98
» 15 »	»	10.40	8.49	8.49	7.57	21.84
» 20 »	«	11.32	7.57	8.49	6.435	25.50
» 25 »	»	7.57	3.575	7.57	3.575	21.84
» 30 »	»	7.57	—	—	—	10.40

Da cui i diagrammi (Fig. 5):

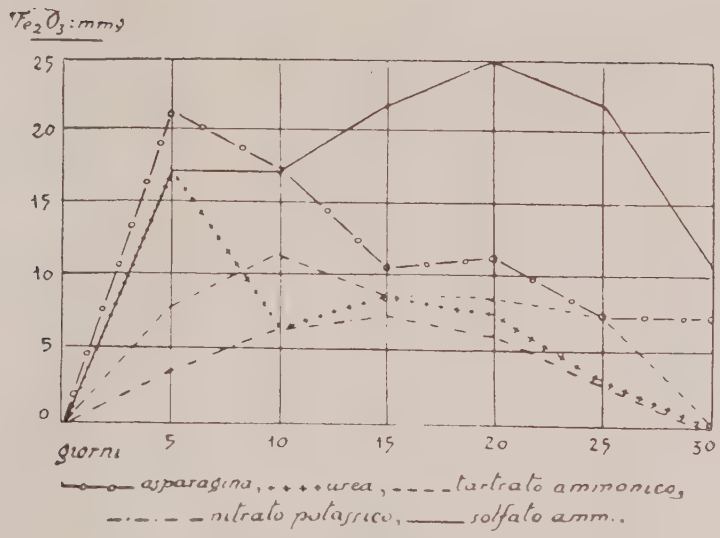

Fig. 5. *Solubilizzazione batterica dell'* Fe_2O_3 *in presenza di varie sorgenti azotate.*

Sia per intensità che per durata nessuna delle sorgenti di azoto sperimentate ha un' influenza paragonabile a quella del solfato ammonico. L' innalzamento della solubilità all' inizio e che quasi ovunque si manifesta, specialmente nei composti di azoto organici, è verosimilmente riportabile all' azione dell' anidride carbonica risultante dalla rapida demolizione della molecola di essi o dei composti carboidrati. Ma quando tale sviluppo è cessato e laddove non persistono prevalentemente che i materiali azotati rimane evidente l'entità degli effetti solutivi ad essi dovuti.

Il fosfato ammonico, come sale fisiologicamente acido, fu quello che dette i migliori risultati: alla sua azione fa contrasto, per la natura fisiologicamente alcalina, il nitrato potassico.

L' azione dei diversi sali ammoniacali.

Risultando i sali ammonici di azione superiore agli altri sperimentati, furono allestite altre colture brute con la medesima soluzione di cui sopra aggiungendo a ciascuna di quattro Erlenmeyer, rispettivamente, tartrato, solfato, cloruro, nitrato ammonico nella quantità corrispondente a gr. 0,3252 $^0/_{00}$ di N.

Altre quattro furono lasciate sterili.

Ricercato periodicamente l' $Fe_2 O_3$, in queste ultime non furono trovate che tracce; mentre nelle colture attive, si ebbe:

Determinazione:	Volume del liquido sottoposto ad analisi cc.	$Fe_2 O_3$ presente nei liquidi di coltura contenenti i seguenti sali ammoniacali:			
		tartrato mmg.	solfato mmg.	cloruro mmg.	nitrato mmg.
Iniziale . . .	100	tr.	tr.	tr.	tr.
Dopo 5 giorni . .	»	7.57	10.40	8.49	6.43
» 10 » . .	»	8.49	16.98	11.32	10.40
» 15 » . .	»	8.49	21.84	16.98	11.32
» 20 » . .	»	3.575	18.41	13.975	8.49
» 25 » . .	»	5.—	11.32	6.43	6.43
» 30 » . .	«	—	7.57	3.575	—

Da cui i diagrammi (Fig. 6):

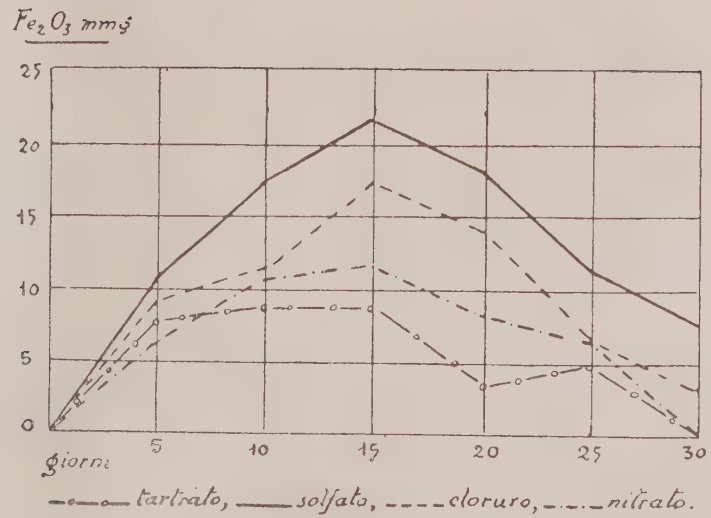

Fig. 6. — *Solubilizzazione batterica dell'* Fe_2O_3 *in presenza di sali ammoniacali diversi.*

Resta in primo luogo confermata l' efficacia di solubilizzazione del solfato ammonico, alla cui azione si avvicina — pur mantenendosi inferiore — quella del cloruro: azione mediocre manifestò il nitrato ammonico; inferiore alle altre, infine, il tartrato.

L' azione della diversa concentrazione dei sali ammoniacali.

Lo studio della diversa concentrazione della sorgente azotata fu limitato al solfato ammonico, essendo risultato il più favorevole nei fenomeni solutivi del carbonato ferroso. Ad esso si accoppiò lo studio relativo al tartrato ammonico per paragonare gli effetti solutivi di un sale fisiologicamente anfotero.

Al solito liquido colturale privo di azoto fu così aggiunto in ogni Erlenmeyer e rispettivamente:

solfato ammonico . . = gr. 0.3252 di N $^0/_{00}$
» » . . = » 0.6504 »
tartrato ammonico . = » 0.3252 »
» » . . = » 0.6504 »

Il controllo sterile fu ritenuto inutile dati i risultati precedenti.

Coltivato come al solito a 20°C. furono ottenuti i seguenti reperti analitici.

Determinazione:	Volume del liquido sottoposto ad analisi	$Fe_2 0_3$ presente nei liquidi di coltura contenenti solfato e tartrato ammonico nelle concentrazioni			
		N $^0/_{00}$ solfato ammon.		N $^0/_{00}$ tartrato ammon.	
		0.3252	0.6504	0.3252	0.6504
		mmg.	mmg	mmg.	mmg.
Iniziale . . .	100	tr.	tr.	tr.	tr.
Dopo 5 giorni . .	»	4.290	3.375	3.575	
» 10 » . .	»	16.88	7.57	6.43	
» 15 » . .	»	17,16	10.725	3.575	
» 20 » . .	»	10.725	8.58	2.86	
» 25 » . .	»	8.58	6.43	2.86	
» 30 » . .	»	4.29	3.757	—	

Da cui i diagrammi (Fig. 7):

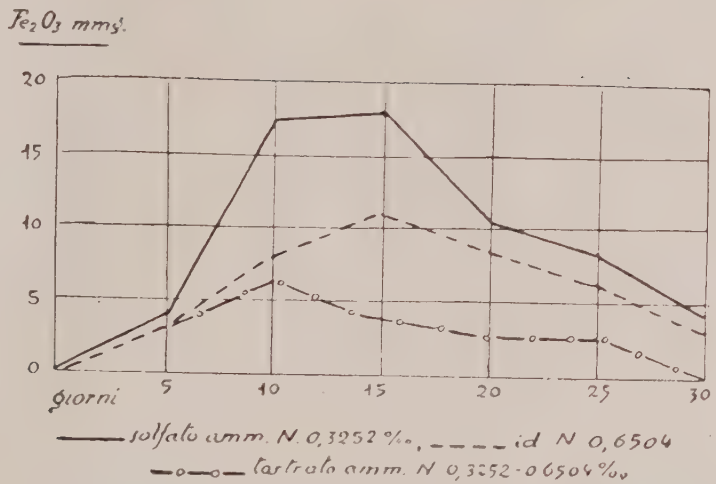

Fig. 7. — *Solubilizzazione batterica dell'* Fe_2O_3 *in presenza di varie concentrazioni di sali ammoniacali.*

I risultati ottenuti confermano, nelle condizioni di esperimento, la notevole azione solvente del solfato ammonico; e i dati relativi dimostrano che detta azione è proporzionale al quantitativo impiegato.

Entro i limiti della presente ricerca, il tartrato ammonico non si dimostrò variamente influente con il variare delle concentrazioni e, come altrove, apparve sorgente di azoto poco favorevole alla solubilizzazione del carbonato ferroso.

V.

Influenza delle basi.

L'influenza delle basi fu ricercata aggiungendo, al seguente liquido colturale:

acqua distillata	1000
glucosio	2
tartrato ammonico	2
fosfato bipotassico	2
cloruro sodico solfato potassico	tracce
carbonato di ferro	1

rispettivamente, in tre grandi Erlenmeyer, gr. 1 di carbonato di magnesio, carbonato di calcio, ossido idrato di alluminio. Coltivato nel solito modo, i risultati dell'esame chimico periodico dei liquidi di coltura furono:

Determinazione:	Volume del liquido sottoposto ad analisi cc.	Fe_2O_3 presente nei liquidi di coltura contenenti nelle proporzioni dell'1‰		
		carbonato di magnesio mmg.	carbonato di calcio mmg.	ossido idrato di alluminio mmg.
Iniziale	100	—	—	—
Dopo 5 giorni	»	2,143	2,143	2,143
» 10 »	»	7,150	4,290	6,430
» 15 »	»	4,290	3,575	5,710
» 20 »	»	3,575	2,145	4,290
» 25 »	»	—	—	2,145
» 30 »	»	—	—	—

Donde i diagrammi (Fig. 8):

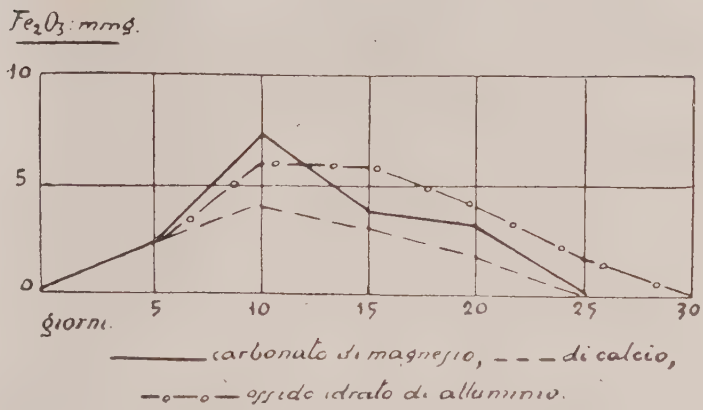

Fig. 8. — *Solubilizzazione batterica dell'* Fe_2O_3 *in presenza di basi diverse.*

Da essi rilevasi che il carbonato di calcio ostacola grandemente la solubilizzazione del carbonato di ferro nelle colture batteriche. In modo analogo, sebbene meno sfavorevolmente, si comporta il carbonato di magnesio e, infine, l'ossido di alluminio.

I fenomeni di solubilizzazione, in presenza di carbonati volgono, appena al 25° giorno, a zero: la solubilizzazione, in altri termini, ivi è nulla e ciò in relazione, verosimilmente alla neutralizzazione degli acidi formantisi nelle colture per effetto delle basi aggiunte.

VI.

Influenza degli elementi oligodinamici.

Sebbene oggi le questioni concernenti l'oligodinamismo sieno considerate, ai fini pratici, prive di quell'importanza cui per lo addietro loro si attribuiva, si è voluto vedere fino a punto alcune sostanze qualificate oligodinamiche, po-

tessero influire sulla solubilizzazione del carbonato di ferro. Per ciò in grandi matracci contenenti il liquido colturale di cui alla precedente ricerca, fu aggiunto rispettivamente gr. 0,1 di solfato di rame, di solfato di manganese e di solfato potassico, quest'ultimo per valutare a parte gli effetti dell'acido solforico; e inoltre joduro potassico, mentre in un ultimo matraccio non fu eseguita alcuna aggiunta. Furono tutti inoculati con stemperamento acquoso di terra, insieme ad un'altra serie parallela di Erlenmeyer allestite nello stesso modo ma mantenute sterili, come controllo, per gocce di cloroformio.

In queste non si ottenne alcuna solubilizzazione di ferro. Nelle altre, si ottennero i dati:

Determinazione:	Volume del liquido sottoposto ad analisi cc.	Fe_2O_3 presente nei liquidi di coltura contenenti				
		(nessuna aggiunta) mmg.	joduro di potassio mmg.	solfato di potassio mmg.	solfato di magnesio mmg.	solfato di rame mmg.
Iniziale	100	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
Dopo 5 giorni	»	4.290	6.43	8.49	10.40	1.43
» 10 »	»	7.57	8.49	13.975	15.40	3.575
» 15 »	»	8.49	8.49	18.41	16.98	2.143
» 20 »	»	6.43	7.57	16.98	13.975	—
» 25 »	»	4.29	5,—	12.75	9.91	—
» 30 »	»	—	2.143	6.43	5.—	—

Da cui i diagrammi (Fig. 9):

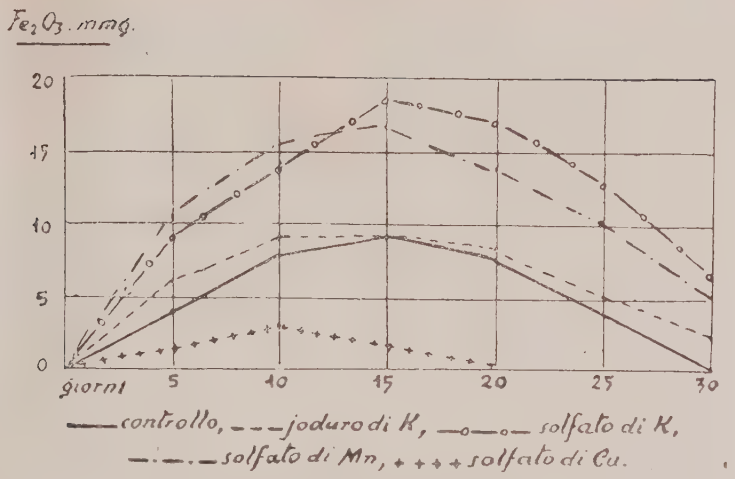

Fig. 9. — *Solubilizzazione batterica dell'* Fe_2O_3 *in presenza di sostanze oligodinamiche.*

I risultati ottenuti dimostrano che l'aggiunta di sostanze oligodinamiche influenza favorevolmente la solubilizzazione del carbonato ferroso. Comportamento superiore agli altri solfati esercitò il solfato potassico; ma ciò era naturale che fosse, data la sua natura fisiologicamente acida e l'elettività dei microrganismi verso il K-ione, maggiore certamente che verso gli altri cationi. Molto vicino alla curva di questo si mantenne la curva del solfato di manganese; assai bassa e breve la curva del solfato di rame dimostratosi venefico nella concentrazione impiegata. La curva relativa allo joduro potassico è a paragonarsi a quella data da colture prive di sali aggiunti. Esso esplicò favorevole azione, come lo si ebbe a dimostrare anche recentemente nella solubilizzazione del fosfato tricalcico.(1)

(1) O. Verona e C. Ferretti. — *L'azione oligodinamica dello jodio e dello joduro potassico nella nutrizione dei microrganismi del*

VII.

I reperti nelle colture pure

Le conoscenze che possediamo sulle proprietà specifiche possedute dai microrganismi nella solubilizzazione del carbonato di ferro sono ben limitate; sì che, disponendo in collezione di alcune forme, si è voluto provare separatamente l'azione solvente di esse.

Peraltro, nell'eseguire le precedenti esperienze, fu cercato sempre se era possibile di individuare qualche forma caratteristica, presumibilmente capace di una più intensa azione solvente: gli isolamenti eseguiti, però, dimostrarono sempre trattarsi di forme note e ubiquitarie. Quindi la ricerca fu limitata agli stipiti seguenti che si coltivarono per 10 giorni nel liquido così costituito:

acqua distillata	1000
tartrato ammonico	2
glucosio	5
fosfato bipotassico	2
cloruro sodico solfato potassico	tracce
carbonato di ferro	1

---

terreno agrario. Atti d. Soc. Tosc. di Scienze Nat. Pisa, 1931.
O. Verona e C. Ferretti. — *Sur l'action des certains éléments olygodinamiques envers la solubilisation bactèrienne du phosphate tricalcique*. Boll. Soc. Internaz. di Microbiologia, fasc. VIII, 1929.

MICRORGANISMO	Volume del liquido analizzato cc.	$Fe_2 0_3$ presente nelle colture mmg.	
		inizialmente	dopo 10 giorni di coltura
Penicillium crustaceum . .	100	tracce	10.400
Aspergillus niger . . .	»		50.050
Bact. fl. liquefaciens n. 1 .	»		47.250
» » » » *2* .	»		45.420
» » « » *3* .	»		43.070
» *pyocyaneum* . . .	»		42.900
» *punctatum* . . .	»		21.500
» *herbicola aureum* . .	»		28.300
» *ochraceum*. . . .	»		45.700
» *crysogloea* . . .	»		35.750

Delle forme cimentate, tutte più o meno, risultarono capaci di solubilizzare il carbonato ferroso. Dei due funghi sperimentati particolarmente attivo si dimostrò *Asp. niger* e, tra gli schizomiceti il *B. fl. liquefaciens* nei suoi tre diversi stipiti, il *B. pyocyaneum* e l'*ochraceum*.

CONCLUSIONI

I fatti che siamo venuti esponendo ci permettono di formulare le seguenti conclusioni:

1. ***Nei mezzi dove ha luogo svolgimento di attività microrganica può verificarsi una solubilizzazione di carbonato ferroso da quella dipendente.***

2. *Su tali fenomeni bacterici di soluzione influisce notevolmente la presenza, nei mezzi colturali, di idrati di carbonio.*

3. *Che tra essi il più acconcio sembra essere il glucosio cui succede il saccarosio, nelle proporzioni del 2 %.*

4. *Notevole influenza esercita pure nei fenomeni solutivi del carbonato di ferro, la sorgente di azoto.*

5. *Ottima azione, al riguardo, esplicano, essendo fisiologicamente acidi, i sali ammoniacali; mentre assai meno attivo si dimostrò il nitrato potassico.*

6. *Tra i sali ammoniacali più intensa azione si verificò in presenza di solfato: ed ha influenza, comunque, la concentrazione in cui esso si trova presente.*

7. *Influenza esplicano le basi; peraltro in modo vario a seconda della natura e della combinazione dell' elemento.*

8. *Al riguardo, azione altamente ostacolante dimostrò avere, più di ogni altro composto, il carbonato di calcio.*

9. *Favoriscono la solubilizzazione del carbonato ferroso piccole aggiunte di elementi oligodinamici, tra i quali solfato di manganese e joduro di potassio.*

10. *Non sembra che esistano particolari forme capaci esclusivamente e preponderalmente di solubilizzare il carbonato ferroso. Specie banali e ubiquitarie possono promuovere il movimento del carbonato ferroso nei liquidi di coltura determinandone più o meno intensa solubilizzazione.*

11. *Il ferro disciolto dalle stesse forme, può, per cause diverse, venire ulteriormente insolubilizzato.*

Queste le conclusioni essenziali del presente studio. Ma a tal punto è d'avvisare come i fatti regolanti la solubilizzione del carbonato ferroso abbiano stretta analogia con quelli relativi alla solubilizzazione dei fosfati insolubili;(1)

---

(1) Vedi R. Perotti. — *Op. cit.*

sì che, essendo essi paragonabili, vien fatto di pensare che in natura ogni solubilizzazione microrganica di composti insolubili avvenga sotto le medesime condizioni — salvo la diversa intensità del fenomeno, in dipendenza questa prevalentemente dello stato di maggiore o minore aggregazione molecolare del composto stesso.

Dal Laboratorio di Batteriologia
del R. Istituto Superiore Agrario di Pisa
agosto 1930 - VIII.